

효소발효 백하수오의 고지혈증 흰쥐에 대한 지질대사 개선 효능 연구

풍수김^{1#}, 노성수², 오당섭³, 서영배^{1*}

1 : 대전대학교 한의과대학 본초학연구실, 2 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실,
3 : 농업회사법인(주)오디에스식품, 세종특별시 전의면 서정길 136

Lipid Improvement Effect of Fermented *Cynanchi wilfordii* Radix in Hyperlipidemia Rats

Xiu Jin Feng^{1#}, Seong-Soo Roh², Dang Seop Oh³, Young Bae Seo^{1*}

1 : College of Oriental Medicine, Daejeon University, Daejeon, Republic of Korea,
2 : College of Oriental Medicine, Daegu Hanny university, Daegu, Republic of Korea,
3 : ODS Food Corporation, Soejungro136, Jeonuiyun Sejongsi, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : The present study was conducted to examine whether *Cynanchi wilfordii* radix (CWR) with or without fermentation has an ameliorative effect on hyperlipidemia in rats.

Methods : We analyzed the contents of Conduritol F on *Cynanchi wilfordii* radix. The experimental animals were divided into six groups; normal diet fed group (N), high cholesterol fed control group (Con), Lovastatin 20 mg/kg (L), CWR-W 300 mg/kg (CWR-W), and CWR-F 300 mg/kg on hyperlipidemia model induced by feeding 1.25% cholesterol. Rats were administrated orally every day for 8 weeks. And lipid profile of serum and weight change were observed.

Results : The vehicle displayed a markedly increased body weight and significantly increased liver and epididymal fat weight, however, the administration of CWR improved the body, liver, and epididymal fat weights. All drug treatment reduced significantly the serum level of total cholesterol and LDL-cholesterol elevated by intake of high cholesterol diet. TG displayed a reducing tendency all drug treatment, however, CWR-W decreased significantly. Atherogenic index and cardiac risk factor increased high cholesterol diet fed control group, while the administration of CWR-W and CWR-F decreased significantly. The major index of liver injury such as AST and ALT improved in all drug treatment.

Conclusions : These results suggest that CWR extended the effect of lipid enhanced. Therefore CWR with or without fermentation may be useful for therapeutic treatment of clinical conditions associated with hyperlipidemia. Finally, these require more investigations about the action mechanism of CWR in the future.

Key words : *Cynanchi wilfordii* radix, High cholesterol diet, Hyperlipidemia, Fermentation

서 론

최근 우리나라에서는 생활수준의 향상과 서구화된 식습관, 운동량의 부족, 스트레스 등으로 인하여 각종 순환기계 질환이 증가하고 있으며, 이의 주요한 발병 원인으로 고지혈증이 중요하게 대두되고 있다¹⁾. 고지혈증이 지속될 경우 심혈관계

질환 및 뇌혈관질환 등 여러 가지 질환을 유발할 수 있어 고지혈증의 관리가 무엇보다 중요하다.

국민건강보험공단의 통계에 따르면, 2013년 우리나라에서 고지혈증으로 진단받은 사람이 128만 8천명으로 나타났으며 여성이 남성보다 더 많고, 증가율이 높으며 특히, 5060세대 100명중 6명은 고지혈증인 것으로 보고되었다. 이는 2008년

*Corresponding author : Young Bae Seo, College of Oriental Medicine, Daejeon University, Daejeon, Republic of Korea
· Tel : +82-42-280-2656 · Fax : +82-42-280-2644 · E-mail : genin@dju.ac.kr

#First author : Xiu Jin Feng, College of Oriental Medicine, Daejeon University, Daejeon, Republic of Korea
· Tel : +82-42-280-2656 · Fax : +82-42-280-2644 · E-mail : fengxiujinvv@naver.com
· Received : 20 October 2015 · Revised : 01 December 2015 · Accepted : 01 December 2015

74만 6000명에서 약 72.8%나 증가한 수치이다²⁾. 또한, 세계적으로 거의 매년 1700만 명의 사망에 있어서 주요한 원인으로 여겨지고 있다³⁾. 고지혈증은 나이가 많은 사람뿐만 아니라 현대의 나쁜 식습관으로 인하여 젊은층에서도 점차 증가하고 있는 추세로 사회적, 경제적으로 심각한 질환으로, 총콜레스테롤(TC; total cholesterol)이 240 mg/dl 이상인 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia)과 중성지방(TG; triglyceride)이 200 mg/dl 이상인 고중성지방혈증(hypertriglyceridemia)으로 분류되고 있다⁴⁾. 고지혈증은 total cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride의 농도는 증가하지만, HDL-cholesterol의 농도가 감소하는 특징을 보이며⁵⁾, 자각증상이 뚜렷하지 않기에 고지혈증의 심화는 죽상동맥경화증, 허혈성 심질환, 뇌경색, 고혈압, 비만, 당뇨병의 증상을 악화시키는 것으로 보고되고 있다⁶⁾.

고지혈증은 한의학적 증상에서도 치료를 하는데 혈액이 점체凝滯한 상태로서 痰濁, 濕痰, 濕熱, 肥滿 등의 범주와 관련이 있다. 병인은 血熱, 血寒, 血虛, 氣虛 등의 경우를 고려할 수 있으며, 脾, 心, 肝, 腎의 부조와 관계가 깊다. 동맥경화 역시 痰飲, 瘀血, 氣滯, 寒凝, 虛癆의 범주에서 이해되고 있다⁷⁾.

白首烏(Cynanchi wilfordii Radix, 白何首烏)는 은조롱 *Cynanchum wilfordii* Hemsley (박주가리과 Asclepiadaceae)의 덩이뿌리로 찌거나 삶은 다음 건조시켜 사용한다. 기원식물인 은조롱은 우리나라, 중국, 일본에서 서식하고 있으며 산지의 양지바른 곳에서 자라는 덩굴성의 초본이다. 우리나라에서는 白何首烏는 중요한 한약재의 하나로 性味는 달고 약간 쓰며 약간 딱딱하다. 주로 肝, 腎, 脾, 胃, 心으로 들어가서 효능을 발휘하고, 약능은 간과 신을 깨끗하게 하고 근골을 강건하게 하며 비장과 위장을 튼튼하게 하고 간의 해독작용을 하기에 脾虛不運이나 肝腎兩虛로 인한 증상을 치료하는 약재로 활용되고 있다⁸⁾.

白何首烏에 대한 약리적인 연구로는 Lee 등⁹⁾이 고지혈증 흰쥐의 혈중지질 및 효소활성에 미치는 영향을 실험하였고, Kim¹⁰⁾은 白何首烏추출액이 고지혈증 및 Streptozotocin 유발 당뇨병 흰쥐의 혈청 지질성분 및 효소활성에 미치는 영향에 대해서 연구를 하였으며, Choi 등¹¹⁾은 고지방/고콜레스테롤 사료를 급여한 마우스에서 혈관내피의 기능장애를 개선하여 죽상경화증의 발달을 억제함을 발표하였다. 또한, Kim 등¹²⁾이 난소적출로 유발된 흰쥐의 골다공증 예방 효과가 있음을 연구하였으며, Hwang 등¹³⁾이 Hcl·ethanol로 유발된 흰쥐의 위염에 염증억제효과를 보인다는 연구를 발표하였다. 이 외에도 白何首烏의 高脂血症에 관한 효과 연구도 있었는데, Niu 등¹⁴⁾은 고콜레스테롤혈증의 마우스에서, Ham 등¹⁵⁾은 국산 및 중국산 白何首烏의 Triton WR-1339 유발로 인한 고지혈증에서 Seo¹⁶⁾는 알콜투여로 유발된 흰쥐의 고지혈증에 효과가 있음을 밝혔다.

전통 약용자원은 주로 생약을 쓰기도 하지만 많은 약용자원이 포제(炮製)를 통해 특히 기본이 되는 초자법(炒炭法) 및 효소발효를 통해 약물 효력을 증대시키고 있다¹⁷⁾. 특히, 발효를 하게되면 영양분의 체내 흡수가 용이하고 또한 그 과정에서 생성되는 다양한 활성성분들의 증대로 인하여 약리효과를 높일 수 있다¹⁸⁾.

이에 저자는 이러한 점에 착안하여 분쇄된 白何首烏 가루(白何首烏 원물), 白何首烏를 발효하여 생긴 발효액 추출물(白何首烏 발효추출물)을 고콜레스테롤식을 급여한 흰쥐에

서 혈중지질농도의 개선에 어떠한 영향을 미치는지 살펴봄으로써 고지혈증의 치료 및 예방에 대한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험약재 및 제조방법

실험에 사용된 백수오(CWR; Cynanchi Wilfordii Radix)는 한약규격품을 건조한 것으로 대전대학교 본초학교실에서 감정한 후 실험에 사용하였다. 백수오원물(CWR-W; Cynanchi Wilfordii Radix wild)은 분쇄된 백수오 가루를 사용한 것이다.

백수오는 발육이 양호하면서 병충해에 피해를 입지 않은 상품을 일차적으로 선별하고, 이렇게 선별된 생백수오의 흙과 이물질 제거를 위해 깨끗한 물을 사용하여 반복하여 세척한 뒤 상태가 양호한 상품을 이차적으로 선별했다.

발효백수오 제조는 우선 용기에 물 6 l를 투입한 후, 100 °C 온도로 물을 끓여 살균 처리하였고, 살균 처리된 물이 담긴 용기에 백수오와 설탕을 5:1의 중량비로 계량하여 골고루 혼합하고 용기에 통기 가능하게 커버를 씌우고 응달에서 상기 혼합된 백수오를 24~26 °C에서 20~30일 동안 발효시켰다. 발효가 끝나면 용기에서 백수오를 건져내고, 숙성실에 1년간 보관하여 숙성 발효시켰다. 숙성 초기 약 1개월 동안은 간헐적으로 저어 주어 공기를 공급해 주었다.

백수오발효추출물(CWR-F; Cynanchi Wilfordii Radix fermentation fluid)은 백수오를 발효하여 생긴 발효액을 추출여과하여 사용한 것으로, 이를 감압 증류 장치로 농축하였다. 농축액을 다시 동결 건조기를 이용하여 완전 건조한 다음 얻어진 분말을 냉동보관(-80 °C)하면서 실험직전에 증류수로(300 mg/kg) 희석하여 실험에 사용하였다.

2. Conduritol F 함량 분석

기기 및 장치는 HPLC system SHIMADZU HPLC system (shimadzu, Japan) LC-20AD Pump, SPD-M20A UV/VIS-Detector, SIL-20A Automated Sample Injector, CHROMELEON LC SOLUTION Data Systems(version 1.21 SPI)을 사용하였다.

시약은 acetonitrile(ACN), water, ethanol {J.T.Baker Chemical Co.(USA)}의 HPLC grade 표준품을 사용하였고, 白首烏의 분석에 사용한 표준품은 은조롱에서 분리한 것으로 conduritol F (순도 94.60%)를 식품의약품안전처 한약재과학 연구사업단의 영남대학교 이승호 교수로부터 제공을 받아 사용하였다

시료의 분말 0.1 g에 70% methanol을 5 ml를 넣고 2시간 동안 초음파 추출한 후 원심분리하여 상등액을 취하여 HPLC 분석 최종 검액으로 하였다. 비극성 성분인 conduritol F의 HPLC 분석은 Luna 5u Silica(2) 100A (Phenomenex Co., USA)를 사용하여, 이동상은 98% acetonitrile을 유속 1.0 ml/min에서 column의 온도는 33 °C로 유지하면서 검출기 UV (203 nm)를 사용하였으며, 주입량은 10 ul 주입하였다.

3. 실험동물 및 약물투여

Sprague-Dawley 웅성쥐 7주령을 중앙실험동물 (서울, 한국)에서 구입하였다. 동물은 실험당일까지 고택사료 (항생제무첨가, 삼양사)와 물을 충분히 공급하고 온도 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대 습도 $50 \pm 10\%$, 명암은 12시간 (light-dark cycle)의 환경에서 1주일간 적응시킨 후 평균체중이 약 280-300 g 정도인 쥐를 실험식으로 8주간 사육하였으며, 투약은 8주간 진행하였다. 몸무게는 일주일에 1회 같은 시간에 측정하였으며, 실험 약제는 매일 일정한 시간에 각 농도에 맞게 증류수에 희석하여 사용하였다. 동물실험은 대전대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다 (승인번호: DHU2014-031).

실험군은 각 군별로 난괴법에 의해 5마리씩 5군으로 나누었다. 정상군 (N)은 일반식이를 섭취한 군이며, 고콜레스테롤군 (Con)은 1.25% 콜레스테롤이 함유된 사료를 섭취한 군이며, Lovastatin (L)은 1.25% 콜레스테롤이 함유된 사료를 섭취하고 양성대조약물인 lovastatin (20 mg/kg)로 투여한 실험군이다. 또한 약물투여군으로 백수오원물 투여군 (CWR-W; 300 mg/kg 농도로 구강투여)과 백수오발효추출물 투여군 (CWR-F; 300 mg/kg 농도로 구강투여)으로 분리하여 실험하였다.

4. 실험기기

본 실험에 사용된 기기는 열탕추출기 (대용, 한국), rotary vacuum evaporator (Buchi B-480, Switzerland), 동결건조기 (FD5508, IIShin), deep-freezer (Sanyo Co, Japan), vortex mixer, 냉장고속원심분리기 (한일과학, Mega17R, 한국) 등을 사용하였다.

5. 고콜레스테롤식이 조성표

실험식은 정상군은 일반사료를 공급하였고, 대조군과 약물처리군은 1.25% 콜레스테롤이 함유된 고콜레스테롤식이 (D12336, Research Diets, Inc., NJ, USA)를 8주간 공급하였다(Table 1).

Table 1. The ingredients of high cholesterol diet

Ingredients	gm	kcal
Casein, 30 Mesh	75	300
Soya protein	130	520
DL methionine	2	8
Corn starch	275	1100
Maltodextrin 10	150	600
sucrose	30	120
Cellulose, BW200	90	0
Soyabean oil	50	450
Cocoa butter	75	675
Coconut oil, 76	35	315
Mineral mix S10001	35	0
Calcium carbonate	5.5	0
Sodium chloride	8	0
Potassium citrate	10	0
Vitamin mix V10001	10	40
Choline bitartrate	2	0
Cholesterol, USP	12.5	0
Sodium cholic acid	5	0
FD&CRedDye#40&FD&CBlueDye#1	0.1	0
Total	1000.1	4128

6. 체중, 식이섭취량, 식이효율 측정

실험동물의 체중은 매주 1회 동일 시간 동일 조건에서 측정하였고, 실험종료일 체중에서 실험 개시 전 체중을 빼서 체중증가량 (body weight gain (g))을 산출하였다. 식이섭취량은 제공된 사료에서 1주일간 섭취하고 남은 사료량을 제하고 각 실험군의 하루 사료섭취량을 산출하였다. 한편, 각 쥐의 체중증가량을 동일 사육기간의 사료섭취량으로 나누어 사료효율 (FER; food efficiency ratio)를 구하였다.

- 체중 (body weight)

- (1) 체중변화 : 매주 1회 오전 동일한 시간에 측정 / 기록
- (2) 총 체중 증가량 : Final body weight (g) - Initial body weight (g)
- (3) 1일 평균 체중 증가량 = Total body weight gain / days

- 사료섭취량 (food intake)

- (1) 1일 평균 식이 섭취량 - Total food intake / days

- 식이효율 (food efficiency ratio, FER)

- (1) FER = [Total weight gain / Total food intake] × 100

7. 혈청분석 및 각종 장기 채취

실험동물은 희생시키기 전 12시간 동안 절식시킨 후 심장에서 채혈을 하였다. 채혈된 혈액은 3000 rpm 15분 원심분리하여 혈청을 얻었고 혈청은 -80°C 에 보관한 후 분석에 사용하였다. 채혈한 다음 실험동물을 희생시킨 후 간, 신장, 부고환주위지방조직을 적출하여 즉시 생리식염수에 헹구고 여과지를 이용하여 표면의 물기를 제거한 후 각각 무게를 측정하였다. 혈청의 total cholesterol과 HDL-cholesterol 은 각각 cholesterol reagent kit (Bayer, USA)와 direct HDL-cholesterol kit (Bayer, USA)를 시약으로 enzymatic colorimetry 검사법을 이용하였다. Triglyceride (TG)는 triglyceride reagent kit (Bayer, USA)를 시약으로 이용하여 분석하였다. 한편 TC, HDL-C, TG 수치를 이용하여 다음과 같이 저밀도지단백-콜레스테롤 (LDL-C)를 계산하였다.

$$\blacksquare \text{ LDL - cholesterol} = \text{TC} - (\text{HDL - cholesterol}) - (\text{TG}) / 5$$

간기능 손상 지표인 aspartate aminotransferase (AST)와 alanine aminotransferase (ALT)는 각각 AST reagents kit (Bayer, USA), ALT reagents kit (Bayer, USA)를 시약으로 international federation of clinic chemistry 검사법을 이용하였다. 신장기능 손상 지표인 Creatinine은 enzymatic method (FUJI DRI-CHEM 4000i, FUJI, Japan)를 이용하여 분석하였다.

8. 동맥경화지수 및 심혈관위험지수 측정

심혈관계 질환의 위험도를 파악하는 지표로서 활용되는 동맥경화지수 (Atherogenic index, AI)와 심혈관위험지수 (cardiac

risk factor, CRF)를 다음과 같이 Rosenfeld식에 따라 분석하였다.

■ 동맥경화지수 (AI)

$$= (TC - HDL - cholesterol) / HDL - cholesterol$$

■ 심혈관위험지수 (CRF)

$$= TC / HDL - cholesterol$$

로 나누어 구하였다.

9. 병리조직분석

백하수오 추출물 (300 mg/kg/day)과 발효백하수오 추출물 (300 mg/kg/day)을 8주간 투여 후 주요 장기들에 대한 조직병리학적 관찰을 수행하기 위해 간과 지방조직등을 절취하여 10% neutral buffered formalin에 24시간 동안 고정시킨 다음 graded alcohol로 탈수시키고 파라핀으로 포매하여 block을 제작한 다음 microtome으로 4 μm 두께의 조직절편을 제작하여 hematoxylin & eosin (H&E) 염색을 시행한 뒤 xylene clearing을 거쳐 permount로 처리한 후 광학현미경위에서 조직 또는 장기별 특이 병변의 유무를 관찰하였다.

백하수오 및 발효백하수오 열수추출물을 8주간 투여한 후 각 실험동물을 피하지방 (abdominal subcutaneous fat), 부고환주변 복부지방량 (epididymal adipose tissue), 그리고 신장부변 복부지방량 (kidney adipose tissue)으로 구분하여 적출 후 지방조직의 중량을 산출하였다.

10. 통계분석

SPSS program for windows version 22 (SPSS Inc., Chicago, USA)를 이용하여 실험결과를 분석하였으며, 모든 측정 결과는 평균 ± 표준오차의 평균 (mean ± SEM)로 나타내었으며, 실험군 간의 차이는 one-way ANOVA와 LSD 분석법을 사용하여 $p < 0.05$ 값인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결 과

1. 백하수오 conduritol F 함량 분석

백하수오 시료에 대한 conduritol F 성분 분석 결과, 백하수오 원물 시료의 함량은 0.33 mg/g을 나타냈으며, 발효 백하수오의 conduritol F 성분 함량은 10.42 mg/g으로 나타났다(Table 2).

Table 2. The contents of conduritol F on Cynanchi wilfordii radix sample

Sample	Contents of conduritol F (mg/g)
CWR-W	0.33 mg/g
CWR-F	10.42 mg/g

CWR-W; Cynanchi wilfordii radix wild, CWR-F; Fermentated Cynanchi wilfordii radix.

2. 체중, 식이섭취량 및 식이효율

적응기간을 제외한 실험식이 급여기간 8주 동안 측정된 체중변화와 고콜레스테롤식이군 대비 체중 감소율은 Table 3에, 식이효율 측정 결과는 Figure 1에 제시하였다. 체중의 변화에 미치는 효과를 비교하였을 시 정상군에 비해 고콜레스테롤군에서 약 35.4% ($p < 0.01$) 체중증가를 보였다. 한편, 양성대조약품 로바스타틴의 투여는 고콜레스테롤식으로 증가된 체중을 약 18.2 % ($p < 0.05$) 감소시켰다. 백수오원물의 투여는 고콜레스테롤군 대비 약 32.2% ($p < 0.001$)로 현저한 체중감소를 보였으나, 백수오발효추출물의 투여는 14.6%로 감소하는 경향은 있으나 유의적이지는 않았다.

식이효율 분석결과, 정상군, 대조군 및 약물투여군간의 식이효율에는 유의적 차이가 보이지 않았다(Fig. 1).

Table 3. Initial and final body weight, body weight change, and body weight reduction ratio in SD rats

Group	Initial body weight (g)	Final bodyweight (g)	Bodyweight change(g)	Reduction ratio vs. Con (%)
N	284.7±2.6	466.5±9.8 ^{***}	181.8±7.4 ^{**}	-
Con	305.3±5.2	551.4±13.9	246.1±9.9	-
L	284.1±9.2	485.3±6.9 ^{**}	201.2±13.9 [*]	18.2
CWR-W	292.4±3.3	459.3±15.3 ^{***}	166.9±16.0 ^{***}	32.2
CWR-F	305.5±3.6	515.6±16.5	210.1±14.7	14.6

All data are expressed means±SEM, n=5 rats per group. Significance: ^{*} $p < 0.05$, ^{**} $p < 0.01$, ^{***} $p < 0.001$ vs. high cholesterol fed rats, N; normal diet fed rats, Con; high cholesterol fed rats, L; high cholesterol diet plus lovastatin 20 mg/kg body weight, CWR-W; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix wild 300 mg/kg body weight, CWR-F; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix fermentation extract 300 mg/kg body weight.

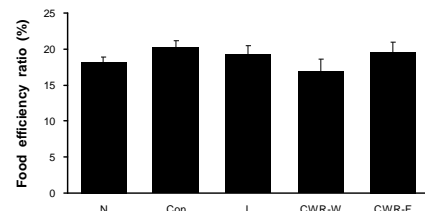


Fig. 1. Food efficiency ratio (FER) in rats fed high cholesterol diet. N; normal diet fed rats, Con; high cholesterol fed rats, L; high cholesterol diet plus lovastatin 20 mg/kg body weight, CWR-W; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix wild 300 mg/kg body weight, CWR-F; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix fermentation extract 300 mg/kg body weight.

3. 간, 신장 및 부고환주위지방조직의 무게

실험동물을 희생시킨 후 적출한 간, 신장 및 부고환주위지방조직의 무게를 측정하였다(Table 4). 일반적으로 고콜레스테롤식을 장기간 급여 시 콜레스테롤이 체외로 정상적으로 배출되지 못하고 간 내에 축적되어 간 비대증을 유발한다고 보고된 것처럼 고콜레스테롤식으로 인하여 정상군에 비해 2.3 배나 간무게가 증가하였으며, 증가된 간무게는 모든 약물처리군에서 감소하였다. 특히, 대조군의 증가된 간무게 28.61 ± 1.21 는 백수오원물투여로 인해 20.65 ± 0.52 로 28%로 가장 두드러진 감소효과를 나타내었다($p < 0.001$).

또한, 고콜레스테롤식이의 급여로 인해 정상군에 비해 부고환지방무게도 유의적으로 증가하였으나 백수오원물투여로 34.8% ($p < 0.01$)로 유의적인 감소를 보였다. 백수오발효추출물의 투여는 간, 신장, 부고환주위지방조직의 무게에 있어서

유의성을 나타내진 않았으나 감소하는 경향을 보였다.

Table 4. Absolute organ weights of high-cholesterol fed rats.

Group	Organ weight (g)		
	Liver weight (g)	Kidney weight (g)	Epididymal fat weight (g)
N	12.63±0.29 ^{***}	3.02±0.10	6.48±0.37 [†]
Con	28.61±1.21	3.18±0.12	9.21±0.84
CWR-W	20.65±0.52 ^{***}	2.80±0.09 [*]	6.00±0.61 ^{**}
CWR-F	26.03±0.90	2.88±0.09	7.85±0.88

All data are expressed means±SEM, n=5 rats per group. Significance: [†] $p < 0.05$, ^{*} $p < 0.01$, ^{**} $p < 0.001$ vs. high cholesterol fed rats, N; normal diet fed rats, Con; high cholesterol fed rats, CWR-W; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix wild 300 mg/kg body weight, CWR-F; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix fermentation extract 300 mg/kg body weight.

4. 혈청내 지질농도 분석

1) 총콜레스테롤 (TC) 함량

Total cholesterol의 경우 고콜레스테롤식이 대조군의 경우 콜레스테롤 농도가 3.5배 상승하였으며 ($p < 0.001$), 모든 약물투여군은 콜레스테롤 수치를 감소시켰다. 특히, 백수오투여군은 추출방법에 상관없이 원물투여군 33.4%, 발효추출물군 24.1%로 유의적으로 감소시키는 효과를 나타냈다(Fig. 2).

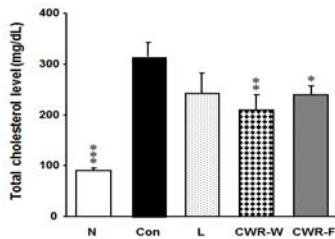


Fig. 2. Total cholesterol level in rats fed high cholesterol diet. All data are expressed means±SEM, n=5 rats per group. Significance: [†] $p < 0.05$, ^{*} $p < 0.01$, ^{**} $p < 0.001$ vs. high cholesterol fed rats, N; normal diet fed rats, Con; high cholesterol fed rats, L; high cholesterol diet plus lovastatin 20 mg/kg body weight, CWR-W; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix wild 300 mg/kg body weight, CWR-F; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix fermentation extract 300 mg/kg body weight.

2) 중성지방 (TG) 함량

Figure 3에서 보는 바와 같이 혈청내 중성지방은 고콜레스테롤 식이로 인해 증가되었지만, 모든 약물처리군에서 감소하는 경향을 보였다. 특히 백수오원물투여군에서만 유의적인 감소를 나타내었고, 발효백하수오 추출물 투여군은 대조군에 비해 18.3% 감소되었다($p < 0.01$).

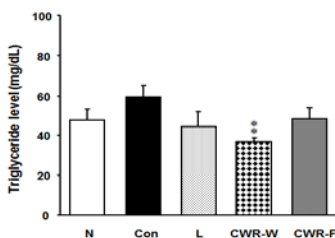


Fig. 3. Triglyceride level in rats fed high cholesterol diet. All data are expressed means±SEM, n=5 rats per group. Significance: ^{*} $p < 0.01$ vs. high cholesterol fed rats, N; normal diet fed rats, Con; high cholesterol fed rats, L; high cholesterol diet plus lovastatin 20 mg/kg body weight, CWR-W; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix wild 300 mg/kg body weight, CWR-F; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix fermentation extract 300 mg/kg body weight.

3) 고밀도지단백콜레스테롤 (HDL-cholesterol) 함량

HDL-cholesterol은 혈관내의 노폐물을 제거하는 기능을 가지고 있는데 양성대조약물인 로바스타틴을 투여한 군을 제외한 모든 군에서 유의적 차이 및 개선효과를 확인할 수는 없었다(Fig. 4).

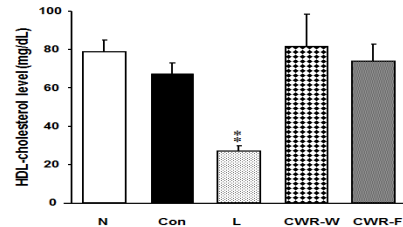


Fig. 4. HDL-cholesterol level in rats fed high cholesterol diet. All data are expressed means±SEM, n=5 rats per group. Significance: ^{**} $p < 0.01$ vs. high cholesterol fed rats, N; normal diet fed rats, Con; high cholesterol fed rats, L; high cholesterol diet plus lovastatin 20 mg/kg body weight, CWR-W; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix wild 300 mg/kg body weight, CWR-F; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix fermentation extract 300 mg/kg body weight.

4) 저밀도지단백콜레스테롤 (LDL-cholesterol) 함량

LDL-cholesterol의 경우 혈액내 함량이 증가하게 되면 동맥경화근에 축적이 되어 동맥경화를 촉진시키는 역할을 하게 된다. 고콜레스테롤식은 정상군 (22 ± 1 mg/dl)에 비해 LDL-cholesterol을 13배나 증가시킴을 보였다 (287 ± 27 mg/dl). 하지만 약물처리로 인해 백하수오원물 투여군은 29.3% (192 ± 40 mg/dl)로 유의성있게 감소되었고, 발효백하수오 투여군의 혈청내 LDL 함량은 203 ± 13 mg/dl로 유의적인 감소를 보여주었다(Fig. 5).

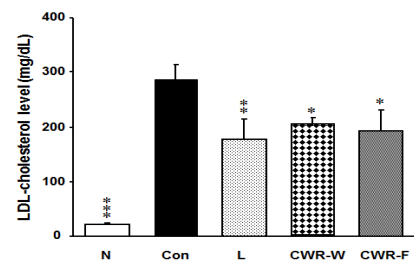


Fig. 5. LDL-cholesterol level in rats fed high cholesterol diet. All data are expressed means±SEM, n=5 rats per group. Significance: [†] $p < 0.05$, ^{*} $p < 0.01$, ^{**} $p < 0.001$ vs. high cholesterol fed rats, N; normal diet fed rats, Con; high cholesterol fed rats, L; high cholesterol diet plus lovastatin 20 mg/kg body weight, CWR-W; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix wild 300 mg/kg body weight, CWR-F; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix fermentation extract 300 mg/kg body weight.

5. 동맥경화지수 (AI) 및 심혈관위험지수 (CRF)에 미치는 영향

심혈관계 질환의 위험도를 파악하기 위해 지표로서 심혈관위험지수 (cardiac risk factor; CRF)와 동맥경화지수 (atherogenic index; AI)를 산출하였다.

Figure 6과 같이 혈중 지질농도로부터 산출된 동맥경화지수와 심혈관위험지수의 CRF와 AI는 정상식이군에서 각각

0.15 ± 0.02, 1.15 ± 0.02이었고, 고콜레스테롤식이 대조군은 각각 3.72 ± 0.34, 4.72 ± 0.34로 두 실험군간의 유의적인 차이를 보였다. 반면에 고콜레스테롤식이와 함께 8주간 경구 투여한 백수오원물의 CRF와 AI는 각각 1.70 ± 0.26, 2.70 ± 0.26로 나타났으며, 백수오발효추출물의 CRF와 AI는 각각 2.29 ± 0.17, 3.29 ± 0.127로 감소함을 나타냈다. 특히, 백수오원물추출물은 AI 지수가 54.1%, CRF 지수는 42.8%로 다른 투여군에 비해서 동맥경화지수와 심혈관위험지수를 유의적으로 감소시키는 효과가 확인되었다.

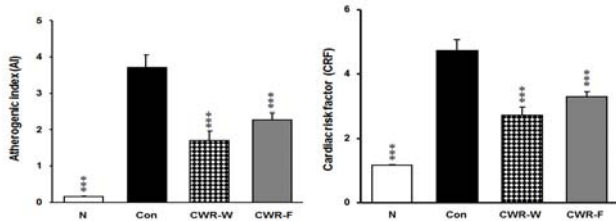


Fig. 6. Evaluation of atherogenic index (AI) and cardiac risk factor (CRF) in rats fed high cholesterol. All data are expressed means±SEM, n=5 rats per group. Significance: *** $p < 0.001$ vs, high cholesterol fed rats, N; normal diet fed rats, Con; high cholesterol fed rats, CWR-W; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix wild 300 mg/kg body weight, CWR-F; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix fermentation extract 300 mg/kg body weight.

6. 혈청 중 AST, ALT 함량 분석

AST, ALT는 간세포내 미토콘드리아에 존재하며 간세포의 파괴에 의해 혈액내로 유출되는 효소로서 간기능 개선효과를 확인하기 위하여 분석하였다.

혈청내 AST는 고콜레스테롤 식이로 인해 정상식이군에 비해 3.2배나 증가하여 간기능의 손상을 야기시켰으나 로바스타틴, 백수오원물투여군, 백수오발효추출물투여군에서 유의적인 감소효과 ($p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.05$)를 보여 간기능이 회복되는 것을 보여주었다(Fig. 7).

혈청내 ALT는 고콜레스테롤 식이로 인해 정상식이군에 비해 3.6배나 증가하였으나 로바스타틴, 백수오원물투여군, 백수오발효추출물투여군에서 유의적인 감소효과 ($p < 0.01$)를 보여주었다(Fig. 7).

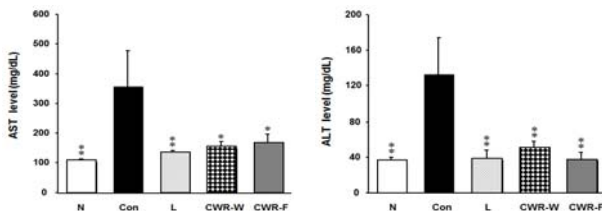


Fig. 7. Evaluation of aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in rats fed high cholesterol diet for 9 weeks. All data are expressed means±SEM, n=5 rats per group. Significance: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs, high cholesterol fed rats, N; normal diet fed rats, Con; high cholesterol fed rats, L; high cholesterol diet plus lovastatin 20 mg/kg body weight, CWR-W; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix wild 300 mg/kg body weight, CWR-F; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix fermentation extract 300 mg/kg body weight.

7. 혈청 중 Creatinine 함량 분석

혈청내 신장기능을 대표하는 Creatinine 수준은 정상식이

군에 비해 고콜레스테롤식이 대조군에서 1.3배 증가함을 보였다. 증가된 creatinine을 로바스타틴 처리군에서 현저한 감소 및 신장기능 개선효과를 보였으나, 나머지 약물처리군에서는 유의적인 변화 및 개선효과를 보이지 않았다(Fig. 8).

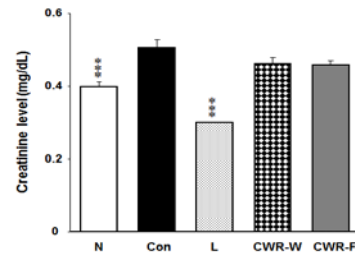


Fig. 8. Evaluation of creatinine in rats fed high cholesterol diet for 9 weeks. All data are expressed means±SEM, n=5 rats per group. Significance: *** $p < 0.001$ vs, high cholesterol fed rats, N; normal diet fed rats, Con; high cholesterol fed rats, L; high cholesterol diet plus lovastatin 20 mg/kg body weight, CWR-W; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix wild 300 mg/kg body weight, CWR-F; high cholesterol diet plus Cynanchi wilfordii radix fermentation extract 300 mg/kg body weight.

8. 간조직학적 검사 분석

Figure 9는 고콜레스테롤혈증 병태모델에서 시험물질에 따른 간 조직검사 (H&E 염색)를 나타낸 조직사진이다. Figure9에서 고콜레스테롤혈증 대조군에서 보듯이 지방간이 유발된 간 조직에서는 마이크로 지방구가 간세포질에 축적되어 마이크로 지방구들이 거대세포성(macrovesicular) 지방증으로 진행되어 조직상에 큰 지방구들이 나타나며, 또한 헤마톡실린-에오신 (H-E)과 oil red O 염색으로 염색시 지방의 축적으로 회색 지방축적세포들이 넓게 분포하는 지방간이 나타난다. 즉, 정상식이 정상군과 비교하여, 고콜레스테롤식이 섭취에 의해 고콜레스테롤혈증이 유발된 고콜레스테롤식이 대조군에서 강하게 회색지방축적세포들이 전체에 존재하고, 거대세포성(macrovesicular) 지방증도 많이 존재함을 관찰하였다. 양성대조군 (Lovastatin; 20 mg/kg)과 CWR-F, CWR-W을 300 mg/kg 농도로 각각 처리한 투여군은 고콜레스테롤식이 고콜레스테롤혈증 대조군에 비하여 회색지방축적세포들과 거대세포성 (macrovesicular) 지방증이 감소가 현저하게 개선되었다(Fig. 10).

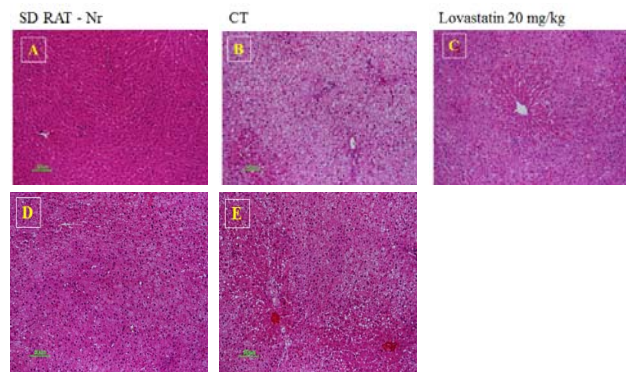


Fig. 9. Liver (H&E staining) histology A; SD-rat normal, B; high cholesterol fed rats, C; group treated with Lovastatin 20 mg/kg, D; group treated with CWR-F (300 mg/kg), E; group treated with CWR-W (300 mg/kg)

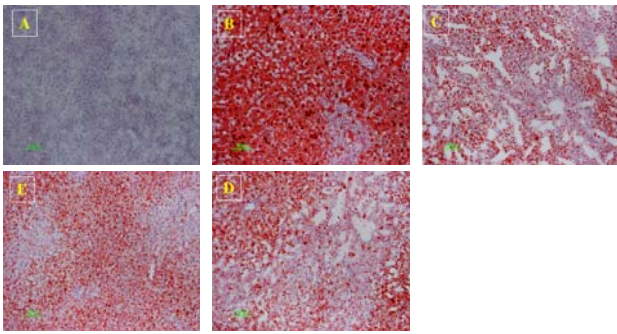


Fig. 10. Liver (Oil red O staining) histology
A: SD-rat normal, B: high cholesterol fed rats, C: group treated with Lovastatin 20 mg/kg, D: group treated with CWR-F (300 mg/kg), E: group treated with CWR-W (300 mg/kg)

9. 복부지방 조직분석

Figure 11에서 보듯이, 고콜레스테롤식이 고콜레스테롤혈증 대조군은 정상군에 비하여 지방세포 크기가 증가한 반면, 양성 대조군 (Lovastatin) 20 mg/kg, CWR-F (300 mg/kg), 그리고 CWR-W (300 mg/kg) 투여군에서 백색지방 크기 감소를 나타내었다.

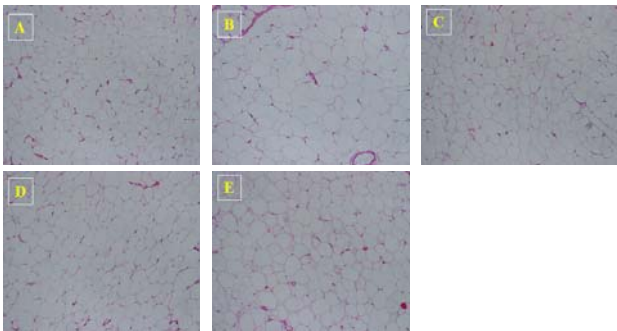


Fig. 11. Adipose tissue histology (Oil red O stain)
A: SD-rat normal, B: high cholesterol fed rats, C: group treated with Lovastatin 20 mg/kg, D: group treated with CWR-F (300 mg/kg), E: group treated with CWR-W (300 mg/kg)

고찰

현대인들의 서구화된 식생활로 인해 단백질과 지방이 풍부하지만 식이섬유가 부족한 동물성 식품과 설탕, 식염을 함유한 가공식품의 과잉 섭취로 체내 콜레스테롤과 중성지방의 축적이 높아지고 있고, 이로 인해 야기되는 죽상동맥경화증은 관상동맥심장병과 심근허혈의 병태생리학과 연관되어있다^{19,20}. 그래서 콜레스테롤 수치를 낮추는 것은 관상동맥심장병의 위험성을 감소할 수 있기에 무엇보다 중요하다.

고지혈증은 체내지질대사에 이상이 생겨 혈중의 지질이 비정상적으로 높아진 상태로 대표적으로 콜레스테롤과 중성지방이 증가한다. 콜레스테롤은 인지질과 함께 세포막의 성분으로 그리고 각종 호르몬 생산의 원료나 담즙산의 전구체로 중요한 지질이며, 대부분은 간에서 합성되고, 갑상선기능저하증, 신증후군, 간질환, 관상동맥질환에서 증가하며, 혈중에서는 지단백과 결합하여 전신의 세포로 운반되어 이용된다. 그러나 간의 대사량을 넘어선 과도한 섭취는 지방과 콜레스테롤의 축

적을 야기하고 산화적 스트레스(oxidative stress)를 야기시키는데, 이때 항산화 효소의 활성이 원활하게 이루어지지 않으면 항산화 방어계 (antioxidative defense system)에 불균형을 가져오게 되고 이는 생체 내 발생한 과도한 자유라디칼을 제대로 소거하지 못하게 되어 심혈관계 질환을 유발하게 된다^{21,22}. 또한, 인체에서 중성지방은 식이로 섭취되는 총지방의 95%를 차지하며 전신 조직의 주성분으로 체내에너지 저장에 관여하고 있으며, 동맥경화증, 당뇨병, 신장질환, 췌장염, 갑상선기능저하증 등에서 높은 수치를 나타낸다. 즉, 혈중의 중성지방의 함량이 높으면 심장병의 발병률을 높인다.

본 실험에서 혈청 총콜레스테롤 함량을 측정된 결과, 고콜레스테롤食을 제공한 쥐에서 체중증가와 더불어 고지혈증 병태를 보였으며 추출법을 달리한 백수오 처리군에서는 대조군에 비해 유의성있는 감소를 나타내었다. 총콜레스테롤뿐만 아니라 중성지방 역시 정상식이군과 비교하였을 때 증가함을 보였다. 여기에 백수오원물, 백수오발효추출물의 투여는 혈장내 총콜레스테롤을 유의적으로 감소시켰으며 양성대조약물 로바스타틴은 유의적으로 감소는 시키지 못했으나 감소하는 경향을 보였다. 반면, 중성지방에서는 로바스타틴의 투여가 의미있게 중성지방 함량을 감소시키는 것을 나타냈다.

LDL-cholesterol은 혈청 콜레스테롤의 2/3을 운반하는데 주로 간에서 말초로 콜레스테롤을 운반하는 지단백으로서 LDL 수용체 이상 또는 VLDL의 합성 항진시에 증가되며 세포내에 축적되어 동맥경화를 유발시킨다. HDL-cholesterol 은 간 및 소장에서 합성되어 혈중으로 유출되고 지단백중 가장 큰 비중을 나타내는 분획으로 간으로 운송하여 담즙산으로서 장관으로 배설되고 다시 장을 통해 흡수되는 대사과정을 거친다. HDL-cholesterol은 항동맥경화작용이 있어서 관상동맥질환의 방어인자로서 중요하며, 성인병 건강진단에 필수검사 항목이 되고 있다. 고지혈증, 비만, 당뇨, 담석증에서 흔히 혈중 총콜레스테롤 및 LDL-cholesterol 농도가 증가하며, 반면 HDL-cholesterol 혈중 농도는 감소하는 경향을 보이게 되며 관상동맥질환 발생 위험 신호가 된다²³. LDL-Cholesterol은 CVD 위험성을 낮추는 치료에 있어서 주요한 타겟이다. 과도한 LDL은 혈관벽에 축적되어 주요한 죽상경화증의 플라크를 구성하는 주요 원인이 된다. 그러므로 혈청의 상승된 LDL-cholesterol의 함량을 낮추는 것이 무엇보다 중요하다.

고콜레스테롤食이의 급여로 상승된 LDL-cholesterol은 모든 처리군에서 유의적인 감소를 볼 수 있었고 궁극적으로 총콜레스테롤 함량을 낮추는데 큰 영향을 미쳤다.

과도한 지방축적은 인슐린저항성 당뇨병을 동반하며 중성지방 축적에 따른 간 및 지방조직의 비대 및 간조직 손상을 유발한다. AST 및 ALT는 간세포에서 다량으로 존재하는 효소로 간손상 시 세포외로 다량 유출되어 혈액에 증가됨으로써 간 손상의 지표로 이용되고 있는 효소이다. AST는 간세포외에 적혈구나 뇌, 신장, 근육세포 등 신체 다른 부위에도 있기 때문에 거의 전적으로 간세포에 내에만 있는 ALT가 보다 더 간질환을 반영한다고 할 수 있다²⁴.

본실험에서는 고콜레스테롤食으로 유도된 간기능 손상이 추출을 달리한 백수오 투여로 인해서 효과적으로 개선된 것으로 사료된다. 간손상에 대하여 혈장성분의 변화 즉 간손상의 지표인 AST와 ALT를 측정된 결과 고콜레스테롤食을 급여한 대조군에서 상승하는 것을 볼 수 있었다. 그러나 로바스

타틴, 백수오원물 그리고 백수오발효추출물 투여로 유의성있게 감소하였다.

고콜레스테롤식이로 지방을 과다섭취하게 되면 간을 비롯한 여러 장기에 지방이 축적이 된다. 체지방은 형태나 작용에 따라 백색지방조직과 갈색지방조직으로 구분되는데, 피하와 장기주변에 위치한 백색지방조직은 주로 체내 잉여에너지를 지방으로 저장하며, 경부와 견갑부에 있는 갈색지방은 열을 생산하는 기능을 한다. 갈색지방은 지방을 연소하는 기능이 있기 때문에 갈색지방이 많으면 지방을 연소시켜 체중을 줄일 수 있고, 반면 백색지방은 열량을 저장하기 때문에 많을수록 체중이 늘어나게 된다²⁵⁾.

이를 토대로 본실험에서 장기의 무게를 측정된 결과를 보면 고콜레스테롤식이로 간과 부고환주위에 지방이 축적이 되어 대조군에서 간무게 및 부고환주위지방조직 무게가 증가하는 것으로 보아 이는 열량을 저장하는 백색지방이 늘어난 것으로 판단된다. 또한, 고콜레스테롤식을 급여로 인해 간무게와 부고환지방무게가 유의적으로 증가하였는데 백수오원물 투여로 인해 현저한 감소 효과를 보였다.

심혈관계 질환의 위험도를 파악하기 위해 지표로서 동맥경화지수와 심혈관위험지수가 이용된다^{26,27)}. 고콜레스테롤식이의 급여로 인해 대조군에서는 정상식이군에 비해 현저히 높은 동맥경화지수와 심혈관위험지수가 측정되었다. 반면, 추출을 달린 백수오는 혈중 중성지방, 총콜레스테롤, LDL cholesterol를 감소시켜 이와 비례하여 동맥경화지수와 심혈관지수를 유의적으로 감소시키는 효과가 확인되었다.

결론

본 연구에서는 고콜레스테롤식을 섭취한 흰쥐에서 백수오원물, 백수오발효추출물이 지질대사 개선에 미치는 영향을 알아보기 위해 실시하였다. 실험군은 일반식을 섭취한 정상군(N)과 고콜레스테롤식이 대조군(Con), 그리고 고콜레스테롤식이에 양성대조군 로바스타틴을 투여한 실험군(L), 백수오원물을 투여한 군(CWR-W), 백수오발효추출물을 투여한 군(CWR-F) 다섯 군으로 분류하였다. 투여기간은 총 8주였으며 사육기간 동안 체중, 식이섭취량, 식이효율을 측정하고, 실험동물을 희생 후 혈액과 조직을 채취하여 혈액 내 지질농도, 간, 신장기능평가 및 각 장기무게를 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 식이효율의 경우 고콜레스테롤식이 대조군이 정상군과 약물처리군에 비해 약간 높게 나타났으나, 유의성은 나타나지 않았다. 이는 약물처리로 인한 부작용에 의해서 생기는 체중감소가 아닌 약물의 효능에 의해 나타나는 체중감소임을 판단할 수 있다. 특히, 체중 증가량을 비교 분석해본 결과, N군, CWR-W군에서 유의적으로 감소됨을 보였다.
2. 장기 무게를 살펴본 결과, 간, 신장 그리고 부고환지방의 무게 모두에서 CWR-W군이 유의적으로 감소함을 보였으며, 또한, 부고환지방무게에서도 CWR-W군 ($p < 0.01$)이 유의성있게 감소됨을 보였다.

3. 총콜레스테롤은 백수오 모든 시료 투여군에서 함량이 유의적으로 감소하였다. 중성지방의 경우는 대조군과 비교 분석하였을 시 CWR-W군에서만 유의성을 보였으나, 평균값의 경우 L군, CWR-F군이 정상군 수준까지 감소됨을 보였다.

4. 혈청 HDL-cholesterol 와 LDL-cholesterol을 분석한 결과, L군 ($p < 0.001$)에서만 유의적으로 HDL-cholesterol 이 유의적으로 감소하는 경향을 보였으며 나머지 실험군에서는 의미있는 경향성을 보이지 않았다. 또한, LDL-cholesterol은 모든 실험군에서 유의성있게 감소되었다.

5. 백수오발효추출물은 고콜레스테롤식이 대조군에 비해 AI 지수가 54.1%로 CRF 지수는 42.8%로 동맥경화지수와 심혈관위험지수를 유의적으로 감소시키는 효과가 확인되었다.

6. 간기능의 지표인 AST, ALT 및 신장기능의 지표인 Creatinine을 분석한 결과, 모든 약물처리군의 함량이 고콜레스테롤식이 대조군에 비해 유의성있게 감소하는 경향을 보인다.

7. 간조직의 손상 및 지방 축적이 양성대조약물 투여군과 백수오 추출물 투여군에서 모두 개선되었으며, 복부 지방 세포 크기 또한 개선되었다.

이상의 실험 결과들에 따르면 고콜레스테롤식을 섭취한 흰쥐에게 처리방법을 달리한 백수오를 투여함으로 인해 체중 감소효과를 모두에서 볼 수 있었고, 백수오원물투여군이 혈중 지질농도중 TC, TG 및 LDL-C 모두를 조절하여 유의적인 감소를 보이는 것으로 나타났다. 또한, 백수오원물과 백수오 발효추출물이 동맥경화지수와 심혈관위험지수를 유의적으로 감소시키는 것으로 나타났다. 위 결과로 고지혈증 개선 효과는 백수오원물뿐만 아니라 발효한 백수오를 처리하였을 때에도 효과적임을 이 실험을 통해 제시하는 바이며, 그 이전에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

References

1. Kim TH, Son YK, Hwang KH, Kim MH. Effects of Angelica keiskei Koidzumi and Turmeric Extract Supplementation on Serum Lipid Parameters in Hypercholesterolemic Diet or P-407-Induced Hyperlipidemic Rats. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2008 ; 37(6) : 708-713.
2. Retrieved Jun, 05, 2015, from <http://www.nhis.or.kr/menu/retrieveMenuSet,xx?menuId=D4000>.
3. Yang YH, Yang J, Jiang QH. Hypolipidemic effect of gypenosides in experimentally induced hypercholesterolemic rats. Lipids Health Dis. 2013 ; 12 : 154.
4. Kim JS, Suh YK, Kim HS, Chang KJ, Choi HM.

- The Relationship between Serum Cholesterol Levels and Dietary Fatty Acid Patterns, Plasma Fatty Acids, and Other Lipid Profile among Korean Adults. *Korean J Community Nutrition*, 2003 ; 8(2) : 192-201.
5. Jang WS, Kim YS, Seol IC. Antioxidant and Lipid-lowering Effects of *Artemisia capillaris* on a Rat Model of Hyperlipidemia. *J Korean Orient Med*, 2012 ; 33(2) : 11-24.
 6. Ding M, Si D, Zhang W, Feng Z, He M, Yang P. Red yeast rice repairs kidney damage and reduces inflammatory transcription factors in rat models of hyperlipidemia. *Exp Ther Med*, 2014 ; 8(6) : 1737-44.
 7. Ahn HR. The study of effectiveness of herbs and the meaning of oriental medicine for Hyperlipidemia. Duksung Women's University. 2011.
 8. Kang DG, Lee YM, Oh HC, Mun YJ, Lee HS, Woo WH. Effects of the Fermented Extract Using the Leaves of *Pinus densiflora* on Hyperlipidemia Rats. *Korean J Orient Physiol Pathol*, 2003 ; 17(1) : 140-5.
 9. Lee YJ, Son YJ. The effects of *Polygoni multiflori* Radix and *Cynanchi wilfordii* Radix on the Blood Lipids and Enzymes of Hypercholesterolemic Rats. *Kor J Herbol*, 1999 ; 14(1) : 69-77.
 10. Kim HS. Effects of *Cynanchum wilfordii* Extract on Serum Lipid Components and Enzyme Activities in Hyperlipidemic and Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Korean J Hum Ecol*, 2004 ; 7(2) : 1-11.
 11. Choi DH, Lee YJ, Oh HC, Cui YL, Kim JS, Kang DG, Lee HS. Improved endothelial dysfunction by *Cynanchum wilfordii* in apolipoprotein E(-/-) mice fed a high fat/cholesterol diet. *J Med Food*, 2012 ; 15(2) : 169-79.
 12. Kim MJ, Seo BI, Shin SS, Park JH. Effect of *Polygoni Multiflori* Radix and *Cynanchi Wilfordii* Radix On Prevention of Osteoporosis In Ovariectomized Rats. *Kor J Herbol*, 2004 ; 19(1) : 23-34.
 13. Hwang IY, Hwang SA, Lee SH, Jeong CS. Inhibitory Effects of *Cynanchum wilfordii* hemsley and *C. auriculatum* Royle ex Wight Extracts on HCl · ethanol-Induced Gastritis in Rats. *Duksung Bull Pharm Sci*, 2011 ; 22 : 25-32.
 14. Liu SJ, Ramsey RK, Fallon HJ. Effects of ethanol on hepatic microsomal drug-metabolizing enzymes in the rat. *Biochem Pharmacol*, 1975 ; 24(3) : 369-78.
 15. Ham IH, Lee JY, Yoon YJ, Yang GS, Tae J, Bu YM, Kim HC, Choi HY. Effects of *Cynanchum* spp. on the hyperlipidemia in rats induced by Triton WR-1339. *Kor J Herbol*, 2007 ; 22(4) : 279-86.
 16. Seo BI. Effects of *Cynanchi Wilfordii* Radix on Prevention of Hyperlipidemia and Liver Damage Induced by Alcohol. *Kor J Herbol*, 2008 ; 23(4) : 31-8.
 17. Shin YO, Park CH, Lee GH, Yokozawa T, Roh SS, Rhee MH. Heat-Processed *Scutellariae Radix* Enhances Anti-Inflammatory Effect against Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury in Mice via NF- κ B Signaling. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015 ; 2015 : 456846.
 18. Choi HT, Kim ES, Ham SS, Park SY, Chung HY. Effects of Complex Food Ingredient Composed of Garlic and Fermented Soybean Hypocotyl on the Serum Lipid Profiles of the Rats Fed High-Fat Diet. *Korean J Food Sci Technol*, 2008 ; 40(2) : 215-9.
 19. Jung MA, Cho SH, Lee SY, Kim JH, Oh KN, Kim YS, Yoo GS, Lee DW, Kim SO. Effects of Unripe *Rubus coreanus* Miquel Extract on Improvement of Lipid Metabolism in C57BL/6 Mice Fed a High-Cholesterol Diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 2014 ; 43(5) : 650-5.
 20. Kamesh V, Sumathi T. Antihypercholesterolemic effect of *Bacopa monniera* linn. on high cholesterol diet induced hypercholesterolemia in rats. *Asian Pac J Trop Med*, 2012 ; 5(12) : 949-55.
 21. Lee JM, Choi SW, Cho SH, Rhee SJ. Effect of Seeds Extract of *Paeonia Lactiflora* on antioxidative system and lipid peroxidation of liver in rats fed high-cholesterol diet. *Korean J Nutr*, 2003 ; 36 : 793-800.
 22. Yokozawa T, Nakagawa T, Kitani K. Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *J Agric Food Chem*, 2002 ; 50(12) : 3549-52.
 23. Tomkin GH. Atherosclerosis, diabetes and lipoproteins. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2010 ; 8(7) : 1015-29.
 24. Goryuyuihakpeynjipbu. *YmsangByungrigumsahakgaeron*. Seoul : Goryuyuihak, 2013 : 223-30.
 25. Avram AS, Avram MM, James WD. Subcutaneous fat in normal and disease status : Anatomy and physiology of white and brown adipose tissue. *J Am Acad Dermatol*, 2005 ; 53(4) : 671-83.
 26. Lee SJ, Ha WH, Choi HJ, Cho SY, Choi JW. Effects of Saury Meat on Antihyperlipidemic and Antiarteriosclerosis Activities in Sprague-Dawley Rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 2011 ; 40(4) : 531-7.
 27. Park HS, Yang KM. Effects of Cheonggukjang Powder Made with Black Foods on Liver Function and Lipid Composition in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Korean J Food Cookery Sci*, 2013 ; 29(6) : 699-707.